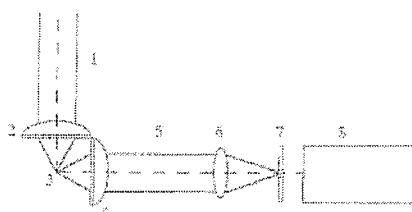


Scanning microscope for viewing at an angle relative to the illumination**Publication number:** DE4326473 (A1)**Publication date:** 1995-02-09**Inventor(s):** STELZER ERNST H K DR [DE]; LINDEK STEFFEN [DE]; PICK RAINER [DE]**Applicant(s):** EUROP MOLECULAR BIOLOGY LAB [DE]**Classification:****- international:** G02B21/00; G02B21/00; (IPC1-7): G02B21/00; G02B21/06**- European:** G02B21/00M4A3; G02B21/00M4A7; G02B21/00M4A7C; G02B21/00M4A7U**Application number:** DE19934326473 19930806**Priority number(s):** DE19934326473 19930806**Also published as:** DE4326473 (C2)**Cited documents:** DE4040441 (A1) DE3906555 (A1) DE3417075 (A1) US4350892 (A) JP5164970 (A)[more >>](#)**Abstract of DE 4326473 (A1)**

The invention relates to a scanning microscope having at least one light source, at least one photodetector and at least two objectives (lenses) which illuminate, preferably simultaneously, at least one, preferably a joint, object point and/or collect the light emerging therefrom, at least two of the objectives not being located on a common axis. Viewing is carried out at an angle, preferably $\pi/2$, relative to the illumination of the sample. The observation volume can be changed anisotropically by suitable inventive optical arrangements.

Data supplied from the **esp@cenet** database — Worldwide



(21) Aktenzeichen: P 43 26 473.5
 (22) Anmeldetag: 6. 8. 93
 (43) Offenlegungstag: 9. 2. 95

(71) Anmelder:

European Molecular Biology Laboratory, 69117
 Heidelberg, DE

(72) Erfinder:

Stelzer, Ernst H.K., Dr., 69126 Heidelberg, DE;
 Lindek, Steffen, 69115 Heidelberg, DE; Pick, Rainer,
 69126 Heidelberg, DE

(56) Entgegenhaltungen:

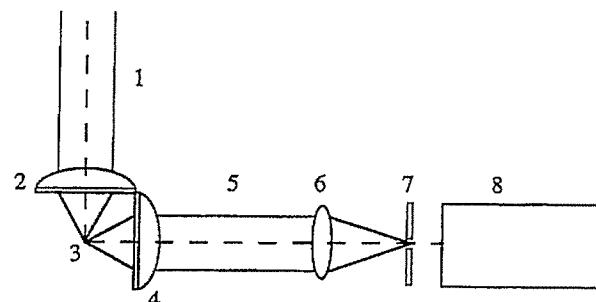
DE 40 40 441 A1
 DE 39 06 555 A1
 DE 34 17 075 A1
 US 43 50 892
 JP 05-1 64 970 A2
 JP 01-2 77 812 A2

JP 1-277812 A. In: Patents Abstracts of Japan, P-997,
 Jan. 29, 1990, Vol. 14, No. 48;

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

(54) Rastermikroskop zur Beobachtung unter einem Winkel zur Beleuchtung

(57) Die Erfindung betrifft ein Rastermikroskop mit mindestens einer Lichtquelle, mindestens einem Lichtdetektor und mindestens zwei Objektiven, die mindestens einen, vorzugsweise gemeinsamen, Objektpunkt, vorzugsweise gleichzeitig, beleuchten und/oder das von ihm ausgehende Licht sammeln, wobei mindestens zwei der Objektive nicht auf einer gemeinsamen Achse liegen. Die Beobachtung erfolgt in einem Winkel, vorzugsweise $\pi/2$, zur Beleuchtung der Probe. Das Beobachtungsvolumen kann durch geeignete erfindungsgemäße optische Anordnungen anisotrop verändert werden.



Die Erfindung betrifft ein Rastermikroskop mit mindestens einer Lichtquelle, mindestens einem Lichtdetektor und mindestens zwei Objektiven, die mindestens einen, vorzugsweise gemeinsamen, Objektpunkt, vorzugsweise gleichzeitig, beleuchten und/oder das von ihm ausgehende Licht sammeln, wobei mindestens zwei der Objektive nicht auf einer gemeinsamen Achse liegen.

Für die genaue dreidimensionale Erfassung eines Punktobjektes oder eines Punktes eines Objekts mit einem Mikroskop ist die Auflösung entlang aller drei Raumachsen zu verbessern. Dieses kann mittels Vergrößerung der Apertur der Objektive oder/und mittels Verkleinerung der Wellenlängen des ein- und/oder ausgehenden Lichts erfolgen. Bisher wurde bei der Entwicklung von Mikroskopen besonderer Wert auf die Vergrößerung der Apertur der Objektive gelegt. Dadurch wird vor allem die Auflösung senkrecht zu der Beleuchtungssachse, die üblicherweise als optische Achse bezeichnet wird, erhöht. Aus der technisch-wissenschaftlichen Literatur sind konfokale Rastermikroskope bekannt, die eine Auflösung entlang der optischen Achse (axiale Auflösung) aufweisen und Bilder mit einer deutlich verbesserten Schärfe erzeugen können. Ein Problem ist, daß Objektive maximal 35% der um die optische Achse zentrierten Fläche erfassen. Das führt dazu, daß die axiale Auflösung bestenfalls dreimal so schlecht wie die axiale Auflösung ist. Im allgemeinen ist das Verhältnis größer.

Für die zusätzliche Erhöhung der Auflösung in axialer Richtung wurde in der DE-OS 40 40 441 ein doppelkonfokales Rastermikroskop vorgeschlagen, das durch die Verwendung eines zweiten Objektivs auf der anderen Seite der Objektebene gekennzeichnet ist, wobei beide Objektive einen gemeinsamen Objektpunkt gleichzeitig beleuchten und/oder das von ihm ausgehende Licht detektieren. Wird das Objekt über die beiden Objektive kohärent beleuchtet, so wird das Beobachtungsvolumen durch Interferenz längs der optischen Achse reduziert. Zwei Probleme dieser Methode sind: a) Die Phasendifferenz im gemeinsamen geometrischen Fokus der Objektive ist a priori nicht zu bestimmen, so daß die Lichtverteilung zunächst unbekannt ist. Vorteilhafterweise muß die Phasendifferenz ein ganzzahliges Vielfaches von 2π sein, so daß die Interferenz konstruktiv ist. b) Im vorteilhaften Fall der konstruktiven Interferenz im geometrischen Fokus treten neben dem schmalen Hauptmaximum weitere axiale Nebenmaxima auf, so daß außer dem abzubildenden Punkt im geometrischen Fokus noch andere Punkte erheblich zu dem Signal des doppelkonfokalen Rastermikroskops beitragen. Aus diesen Gründen führt das doppelkonfokale Rastermikroskop zunächst nicht zu Bildern mit einer höheren Auflösung.

Diese bekannten Rastermikroskope definieren eine Objektebene und unterscheiden dadurch von dem erfindungsgemäßen Rastermikroskop. Sie sind nicht dazu geeignet, Licht, das senkrecht zur Beleuchtungsrichtung von dem abzubildenden Objektpunkt ausgeht, zu detektieren. Des weiteren unterscheiden sie sich durch die Definition einer optischen Achse und besitzen (im Fall des doppelkonfokalen Rastermikroskops) vorzugsweise zwei Objektive, die gegeneinander gerichtet und zu dieser optischen Achse und zueinander zentriert sind.

Das doppelkonfokale Rastermikroskop dient im Gegensatz zu dem erfindungsgemäßen Rastermikroskop zur Verbesserung der Auflösung allein mittels Interfe-

renz. Die tatsächliche Verbesserung der Auflösung hängt dabei von der Lösung der beiden oben genannten Probleme ab.

Die der vorliegenden Erfindung zugrundeliegende Aufgabe besteht darin, ein Rastermikroskop vorzuschlagen, dessen Auflösung entlang aller drei Raumachsen in etwa gleich ist und das Beobachtungsvolumen kleiner als in den bekannten Rastermikroskopen ist. Die Aufgabe ist es, das Ziel auch zu erreichen, ohne daß die Phasendifferenz des Beleuchtungs- und des Detektionslichts bekannt sind.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß bei einem Rastermikroskop der eingangs genannten Art mindestens zwei Objektive derart angeordnet sind, daß sie mindestens einen Objektpunkt gleichzeitig beleuchten und/oder das von ihm ausgehende Licht sammeln, wobei mindestens zwei der Objektive nicht auf einer gemeinsamen Achse liegen.

Zusätzlich können wie bei einem doppelkonfokalen Rasterlichtmikroskop Interferenzveränderungsmittel derart angeordnet sein, daß Licht, das ganz oder teilweise durch eines der Objektive hindurchgegangen ist, mit Licht, das ganz oder teilweise durch eines der anderen Objektive hindurchgegangen ist, am Objekt und/oder an mindestens einem der Lichtdetektoren kohärent oder teilweise kohärent überlagert wird, so daß es interferiert und eine gezielte Beeinflussung der Interferenzmuster durch Interferenzveränderungsmittel möglich ist.

Vorzugsweise sind zwei Objektive so angeordnet, daß sie auf denselben Objektpunkt fokussiert sind und ihre Achsen senkrecht aufeinander stehen.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform sind drei Objektive so angeordnet, daß sie auf denselben Objektpunkt fokussiert sind und die Achsen zweier Objektive senkrecht aufeinander stehen, während die Achse des dritten Objektivs auf der Achse eines der beiden anderen Objektive liegt.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform sind drei Objektive so angeordnet, daß ihre Achsen paarweise senkrecht aufeinander stehen.

Gemäß weiterer bevorzugter Ausführungsformen sind vier, fünf oder sechs Objektive so auf einer Kugeloberfläche um den gemeinsamen geometrischen Fokus und/oder den abzubildenden Punkt angeordnet, daß ihre Achsen beliebige Winkel zueinander einnehmen.

Gemäß weiterer besonders bevorzugter Ausführungsformen sind vier, fünf oder sechs Objektive senkrecht zu den Flächen eines Würfels angeordnet, in dessen Mitte der gemeinsame geometrische Fokus und/oder der abzubildende Objektpunkt liegt.

Vorteilhafterweise haben die Objektive die gleiche numerische Apertur oder auch verschiedene.

Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform befindet sich in mindestens einer der Ebenen, die zu den Fokalebenen der Objektive optisch konjugiert sind, mindestens eine Blende. Eine Blende wird insbesondere dann vorgesehen, wenn sich die optisch zur Fokalebene konjugierte Ebene vor einem Lichtdetektor befindet, der das durch die Blende gegangene Licht registriert, und/oder wenn diese Blende im Beleuchtungsstrahl zur Formung der Lichtquelle dient. Diese Blende ist üblicherweise eine Lochblende.

Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform wird Interferenz bei der Überlagerung der Beleuchtungslichtstrahlen und/oder bei der Überlagerung der Detektionslichtstrahlen zur Verbesserung der Auflösung ausgenutzt. Dabei wird Licht, das ganz oder teil-

weise durch eines der Objektive hindurchgegangen ist, mit Licht, das ganz oder teilweise durch eines der anderen Objektive hindurchgegangen ist, am Objekt und/oder an mindestens einem der Lichtdetektoren kohärent oder teilweise kohärent überlagert, so daß es interferiert und eine gezielte Beeinflussung der Interferenzmuster durch Interferenzveränderungsmittel möglich ist. Hierbei können die Objektive, durch die die interferierenden Lichtstrahlen gehen, auf der gleichen Achse liegen oder auf Achsen, die einen Winkel bilden, der kleiner als π ist, liegen. Der Begriff der Objektebene verliert in diesem Aufbau seine übliche Bedeutung.

Vorteilhafterweise verändern die Interferenzveränderungsmittel die Interferenzmuster schnell oder auch langsam. Insbesondere verändert eine Kompensationsvorrichtung die Phasendifferenz zwischen den Lichtstrahlen, die durch eines der Objektive hindurchgehen, und den Lichtstrahlen, die durch ein anderes der Objektive hindurchgehen, schnell oder auch langsam.

Gemäß einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform wird die Veränderung der Interferenzmuster periodisch durchgeführt.

Das erfindungsgemäße Rastermikroskop kann ein Fluoreszenzmikroskop sein. Durch geeignete optisch aktive Elemente kann die Interferenz von Strahlen, die durch verschiedene Objektive fallen, bewirkt oder verhindert werden. Das erfindungsgemäße Rastermikroskop kann aber auch ein Mikroskop sein, das mit Streulicht arbeitet. Bei der Beobachtung von Streulicht können geeignete Polarisationsfilter in die Strahlengänge eingeführt werden. Geeignete optische Elemente sind beispielsweise Polarisatoren, spektrale Filter und optisch aktive Elemente, die die Polarisationsrichtung des Lichtes verändern.

Als Lichtquellen sind alle Quellen geeignet, die eine ausreichende Intensität zur Verfügung stellen. Vorteilhafterweise handelt es sich um Punktlichtquellen bzw. Quellen, die sich auf einen Punkt fokussieren lassen. Vorteilhafterweise wird bei Fluoreszenzmikroskopie ein gepulster oder auch nicht-gepulster Laser eingesetzt, der die Zwei- und/oder Mehrphotonenabsorption ermöglicht.

Die Umlenkung der Lichtstrahlen in dem Mikroskop findet über geeignete Umlenkelemente statt. Dies sind beispielsweise Spiegel, dichroitische Spiegel, Strahlteiler oder optische Fasern. Vorteilhafterweise entfällt in der Fluoreszenzmikroskopie bei der Detektion senkrecht zu der Beleuchtungsrichtung die Verwendung von dichroitischen Spiegeln im Detektionslichtpfad.

Als Lichtdetektoren sind Photomultiplier gut geeignet, aber auch Detektoren mit räumlicher Auflösung und auch andere Empfänger, die Lichtsignale in elektrische Signale bzw. in elektrisch auswertbare Signale umwandeln.

Die Erfindung wird nun anhand der beigefügten Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 Eine Darstellung des Prinzips der Beobachtung unter einem Winkel zur Beleuchtung.

Fig. 2 Die schematische Darstellung des Strahlengangs in einer besonders bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Rastermikroskops.

Fig. 3 Die schematische Darstellung des Strahlengangs in einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Rastermikroskops.

Fig. 1a stellt die Anordnung der Objektive und die Beobachtungsvolumina für eine bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Rastermikroskops dar, bei dem zwei Objektive 2 und 4, deren Achsen

senkrecht aufeinander stehen, um den Objektpunkt 3 angeordnet sind.

Fig. 1b stellt die Anordnung der Objektive und die Beobachtungsvolumina für eine bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Rastermikroskops dar, bei dem drei Objektive 2, 4 und 17, von denen zwei (2 und 4) senkrecht aufeinander stehen und das dritte Objektiv 17 auf einer gemeinsamen Achse mit einem der ersten beiden Objektive 2 liegt, um den Objektpunkt 3 angeordnet sind.

Links ist jeweils angegeben, wie die Objektive um den Objektpunkt 3 angeordnet sind. Die Pfeile deuten die Lichtwege 1 und 5 an. In Fig. 1b erfolgt demgemäß die Beleuchtung über zwei gegenüberstehende Objektive 2 und 17. Die beiden Teilbeleuchtungsstrahlen sind hierbei kohärent und die Phasendifferenz ist so eingestellt, daß sie im geometrischen Fokus konstruktiv interferieren.

Die zweite Graphik gibt jeweils das Beleuchtungsvolumen 18 bzw. 22, das längs der Beleuchtungssachse ausgedehnt ist, und die dritte Graphik das Detektionsvolumen 19 bzw. 23, das längs der Detektionsachse ausgedehnt ist, wieder. Die vierte Graphik stellt jeweils die Überlagerung des Beleuchtungs- und des Detektionsvolumens 20 bzw. 24 dar. Rechts wird schließlich jeweils das resultierende Beobachtungsvolumen 21 bzw. 25 der Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mikroskops dargestellt. Je kleiner das Volumen des Ellipsoids ist, desto besser ist die Auflösung des Mikroskops.

Wie in Fig. 2 dargestellt wird das Licht der Lichtquelle, die vorteilhafterweise ein Laser ist, koaxial. Das Licht des Beleuchtungsstrahls 1 fällt auf das Objektiv 2, das es auf den abzubildenden Punkt im Objekt 3 fokussiert. Ein zweites Objektiv 4 ist so angeordnet, daß es vorzugsweise auf den gleichen Punkt 3 fokussiert ist, aber nicht auf einer gemeinsamen Achse mit dem Objektiv 2 liegt. Das Objektiv 4 erfaßt das von dem abzubildenden Punkt 3 ausgehende Licht. Dieses Licht 5 wird über die Linse 6 in die Lochblende 7 fokussiert. Der Lichtdetektor 8 mißt vorzugsweise die Intensität des durch die Lochblende 7 gelangten Lichts. In dem Lichtweg können auch Spiegel und/oder andere Umlenkelemente angeordnet sein.

Das Beleuchtungslicht wird durch das Objektiv 2 fokussiert. Die Intensitätsverteilung im Fokalbereich des Objektivs 2 wird durch die Beleuchtungs-Punktverschmierungsfunktion (B-PVF) $|h_{bel}(x,y,z)|^2$ beschrieben. Die B-PVF ist die Punktverschmierungsfunktion (PVF) eines konventionellen und die B-PVF eines konfokalen Mikroskops. Die Wahrscheinlichkeit, mit der das von dem Fokalbereich ausgehende Licht durch das Objektiv 4 detektiert wird, beschreibt die Detektions-Punktverschmierungsfunktion (D-PVF) $|h_{det}(x,y,z)|_2$. Die PVF eines konfokalen Mikroskops und also auch des erfindungsgemäßen Mikroskops ergibt sich aus dem Produkt der B-PVF und der D-PVF. Die räumliche Begrenzung der PVF ist ein Maß für die Auflösung des Mikroskops. Durch die Drehung der D-PVF gegen die B-PVF um einen Winkel, der kleiner oder größer als π ist, wird die B-PVF mit einer D-PVF multipliziert, die eine wesentlich geringere Ausdehnung längs der Beleuchtungssachse hat. Die Beleuchtungssachse ist die Achse des Objektivs 2, das zur Beleuchtung verwendet wird. Dadurch wird die Ausdehnung der PVF längs dieser Achse deutlich geringer als bei den bisher bekannten konfokalen Mikroskopen. Die Ausdehnung längs der Achse des Objektivs 4 nimmt nur wenig zu, so daß insgesamt das Volumen der PVF des Mikroskops abnimmt und auch

insgesamt eine Auflösungsverbesserung eintritt.

Diese Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mikroskops besitzt die höchste Auflösung, die ein Fernfeld-Lichtmikroskop mit zwei Objektiven ohne die Nutzung von Interferenz haben kann. Durch die Unabhängigkeit von einem Interferenzmuster ist das erfindungsgemäße Mikroskop nicht mit der Problematik der Phasendifferenz behaftet. Der Begriff der Objektebene verliert in diesem Aufbau seine herkömmliche Bedeutung.

Falls Objektrasterung durchgeführt wird, befindet sich das Objekt auf einem — hier nicht eingezeichneten — Tisch, der die vorteilhafterweise beliebige Translation und/oder Rotation des Objekts erlaubt. Falls Strahlrasterung vorgesehen ist, ist eine — hier nicht eingezeichnete — Rastereinheit in dem Beleuchtungsstrahlengang angeordnet, die den Beleuchtungspunkt durch das Objekt bewegt. Gleichzeitig muß auch der Detektionspunkt verändert werden, so daß Beleuchtungs- und Detektionspunkt im Objekt unter kontrollierten Bedingungen verändert werden.

In Fig. 3 ist die schematische Darstellung einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Rastermikroskops dargestellt, das die Interferenz der Beleuchtungslichtstrahlen im abzubildenden Objektpunkt zur Verbesserung der Auflösung ausnutzt.

Das Licht 1 wird von dem Strahlteiler 9 in zwei zueinander kohärente Lichtstrahlen aufgespalten. Der nach oben abgespaltene Teil des Lichts wird mit Hilfe von Spiegeln 13 und 14 oder anderen Umlenkelementen auf das Objektiv 2 gelenkt. Der nach unten abgespaltene Teil des Lichts wird mit Hilfe von Spiegeln 10, 11 und 12 oder anderen Umlenkelementen auf das Objektiv 17 gelenkt. Das Objektiv 2 fokussiert das auf es treffende Licht auf den abzubildenden Punkt 3 in dem Objekt. Das zweite Objektiv 17 ist vorzugsweise so angeordnet, daß es auf derselben Achse liegt wie das erste Objektiv 2 und vorzugsweise auf den gleichen Punkt 3 fokussiert ist. Ein drittes Objektiv 4 ist so angeordnet, daß es auf den gleichen Punkt 3 wie die beiden Objektive 2 und 17 fokussiert ist, aber nicht auf einer gemeinsamen Achse mit den beiden Objektiven liegt. Dieses Objektiv 4 sammelt das von dem abzubildenden Punkt 3 ausgehende Licht. Dieses Licht 5 wird über die Linse 6 in die Lochblende 7 gelenkt. Der Lichtdetektor 8 mißt das Signal des durch die Lochblende 7 gelangten Lichts. In beiden Teilbeleuchtungsstrahlengängen sind Kompensationsvorrichtungen 15 und 16 angeordnet, die zur Veränderung der Phasendifferenz zwischen den oberen und unteren Teilstrahlen dienen und die Interferenz der Teilstrahlen im Objekt gewährleisten.

Die räumliche Kohärenz der Beleuchtung ist durch die geeignete Wahl der Lichtquelle gewährleistet. Im Fokalbereich interferieren die Teilbeleuchtungsstrahlen zu einer B-PVF $|h_4p(x,y,z)|^2$, die räumlich stärker begrenzt ist, als die B-PVF in einem herkömmlichen Mikroskop. Ist die Phasendifferenz zwischen den beiden Beleuchtungsteilstrahlen im Objektpunkt 3 gleich null oder ein ganzzahliges Vielfaches von 2π , so ist die Interferenz konstruktiv und die B-PVF hat ein Maximum im Objektpunkt 3. Die B-PVF weist aber mehrere Nebenmaxima längs der Beleuchtungssachse auf, die die Auflösung herabsetzen. Das erste Intensitätsmaximum von $|h_4p(x,y,z)|^2$ liegt etwa eine halbe Wellenlänge vom absoluten Intensitätsmaximum im Brennpunkt entfernt. Diese Nebenmaxima werden aber nun durch eine Detektion unter einem Winkel von vorteilhafterweise $\pi/2$ effektiv unterdrückt, da die Ausdehnung der D-PVF längs

der Beleuchtungssachse sehr klein ist. Dadurch hat die PVF des erfindungsgemäßen Mikroskops eine axiale Ausdehnung, die im wesentlichen durch die des Hauptmaximums der B-PVF $|h_4p(x,y,z)|^2$ bestimmt wird. Dies bedeutet, daß die Auflösung im erfindungsgemäßen Mikroskop substantiell verbessert wird.

Bezugszeichenliste

10 Zeichnung zur Zusammenfassung und Zeichnung 2

- 1 Beleuchtungsstrahl
- 2 Beleuchtungsobjektiv
- 3 Objektpunkt
- 15 4 Detektionsobjektiv
- 5 Detektionsstrahl
- 6 Linse
- 7 Blende
- 8 Lichtdetektor

20

Zeichnung 1

- a) Ausführungsform mit zwei Objektiven
- b) Ausführungsform mit drei Objektiven

25

Jeweils von links nach rechts:

Anordnung der Objektive; Beleuchtungsvolumen; Detektionsvolumen; Überlagerung von Beleuchtungs- und Detektionsvolumen; resultierendes Volumen

30

Zeichnung 3

- 1 Beleuchtungsstrahl
- 2 Beleuchtungsobjektiv
- 3 Objektpunkt
- 4 Detektionsobjektiv
- 5 Detektionsstrahl
- 6 Linse
- 7 Blende
- 40 8 Lichtdetektor
- 9 Strahlteiler
- 10–14 Spiegel
- 15, 16 Interferenzveränderungsmittel
- 17 Beleuchtungsobjektiv.

45

Patentansprüche

1. Mikroskop mit mindestens einer Lichtquelle, mindestens einem Lichtdetektor und mindestens zwei Objektiven, die mindestens einen Objektpunkt beleuchten und/oder das von ihm ausgehende Licht sammeln, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens zwei der Objektive nicht auf einer gemeinsamen Achse liegen.
2. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Objektive mindestens einen Objektpunkt gleichzeitig beleuchten und/oder das von ihm ausgehende Licht sammeln.
3. Mikroskop nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Objektive mindestens einen gemeinsamen Objektpunkt beleuchten und/oder das von ihm ausgehende Licht sammeln.
4. Mikroskop nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß Interferenzveränderungsmittel derart angeordnet sind, daß Licht, das ganz oder teilweise durch eines der Objektive hindurchgegangen ist, mit Licht, das ganz oder teilweise durch ein anderes der Objektive hindurchgegangen ist.

ve hindurchgegangen ist, am Objekt und/oder an mindestens einem der Detektoren kohärent oder teilweise kohärent überlagert wird, so daß es interferiert und eine gezielte Beeinflussung der Interferenzen möglich ist.

5. Mikroskop nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß an dem abzubildenden Objektpunkt und/oder an mindestens einem der Lichtdetektoren zumindest zeitweise konstruktive Interferenz auftritt.

6. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zwei Objektive so angeordnet sind, daß sie auf denselben Objektpunkt fokussiert sind und ihre Achsen senkrecht aufeinander stehen.

10. 7. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zwei der mindestens drei Objektive eine gemeinsame Achse haben.

8. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß drei Objektive so angeordnet sind, daß ihre Achsen paarweise senkrecht aufeinander stehen.

9. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß drei, 25 vier, fünf oder sechs Objektive so auf einer Kugeloberfläche um den gemeinsamen geometrischen Fokus und/oder den abzubildenden Punkt angeordnet sind, daß ihre Achsen beliebige Winkel zu einander einnehmen.

10. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß vier, fünf oder sechs Objektive senkrecht zu den Flächen eines Würfels angeordnet sind, in dessen Mitte der gemeinsame geometrische Fokus und/oder der abzubildende Objektpunkt liegt.

11. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Objektive die gleiche numerische Apertur oder auch verschiedene numerische Aperturen haben.

12. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß sich in mindestens einer Ebene, die zu einer der Fokalebenen der Objektive optisch konjugiert ist, mindestens eine Blende befindet.

13. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Interferenzveränderungsmittel an dem abzubildenden Objektpunkt und/oder an mindestens einem der Detektoren eine Überlagerung kohärenter oder teilweise kohärenter Lichtstrahlen ermöglicht, die jeweils durch verschiedene Objektive getreten sind.

14. Mikroskop nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Kompensationsvorrichtung an dem abzubildendem Objektpunkt und/oder an mindestens einem der Detektoren zumindest zeitweise konstruktive Interferenz der Lichtstrahlen hervorruft.

15. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Veränderung der Interferenzen durch die Interferenzveränderungsmittel schnell oder auch langsam durchgeführt wird.

16. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Veränderung der Interferenzen periodisch durchgeführt wird.

17. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Signalauswertung zumindest teilweise mit einem Computer erfolgt.

18. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens eine Anordnung von optischen Elementen zur Veränderung der Amplitude und/oder der Polarisierung und/oder des Frequenzbereichs und/oder anderer Eigenschaften des Lichts in den Beleuchtungs- und/oder den Detektionsstrahlengängen vorgesehen sind.

19. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es als Fluoreszenzmikroskop oder als Mikroskop zur Beobachtung von Streu- oder Reflexionslichts verwendet wird.

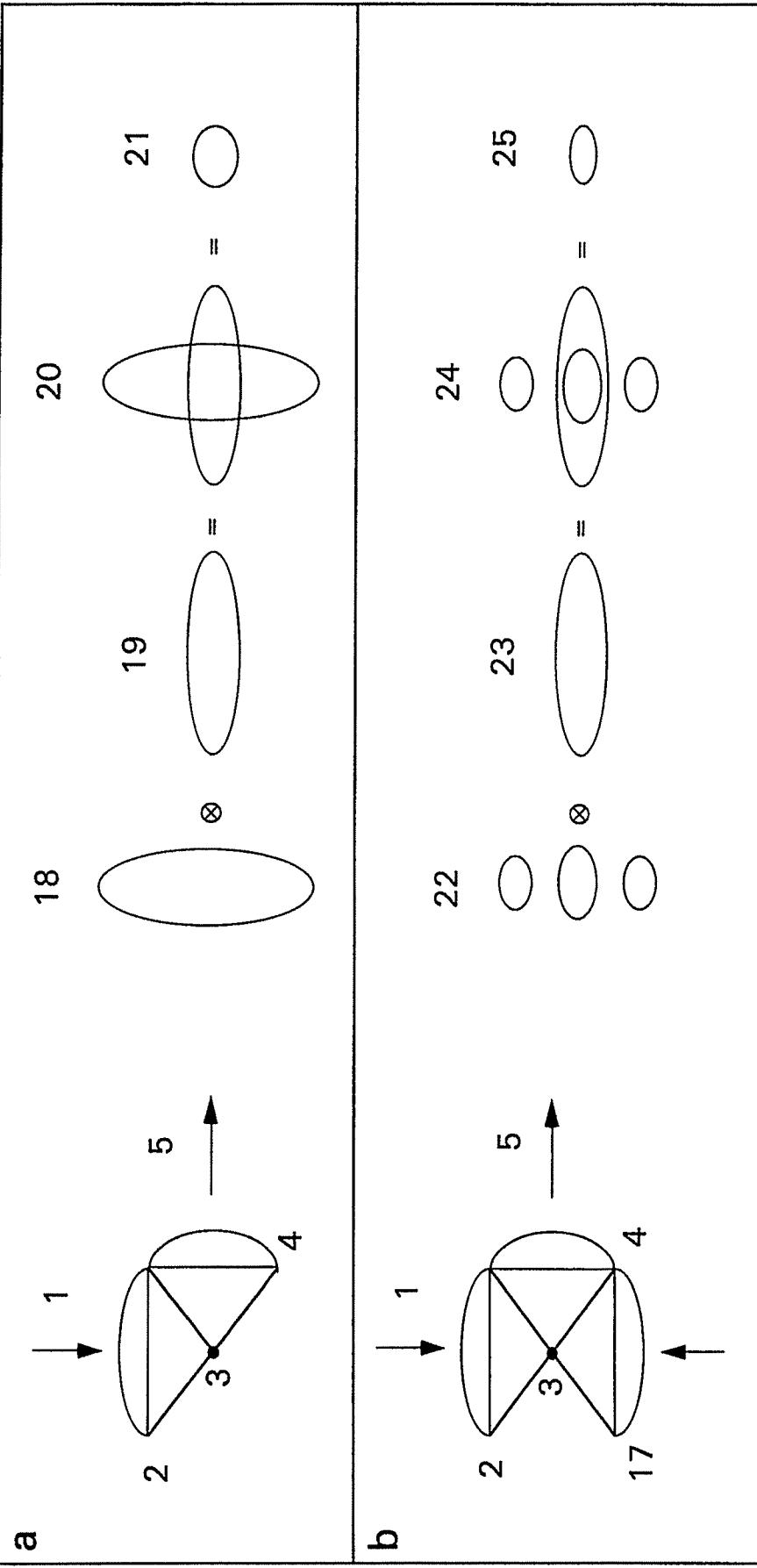
20. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß eine Lichtquelle eingesetzt wird, die Mehrphotonenabsorption ermöglicht, insbesondere ein Laser, der Zweiphotonenabsorption ermöglicht.

21. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die zu einer der Fokalebenen konjugierten Blenden entfernt und/oder ausgetauscht und/oder in ihrer Öffnung variiert und/oder parallel und/oder senkrecht zu dem Lichtweg verschoben werden können.

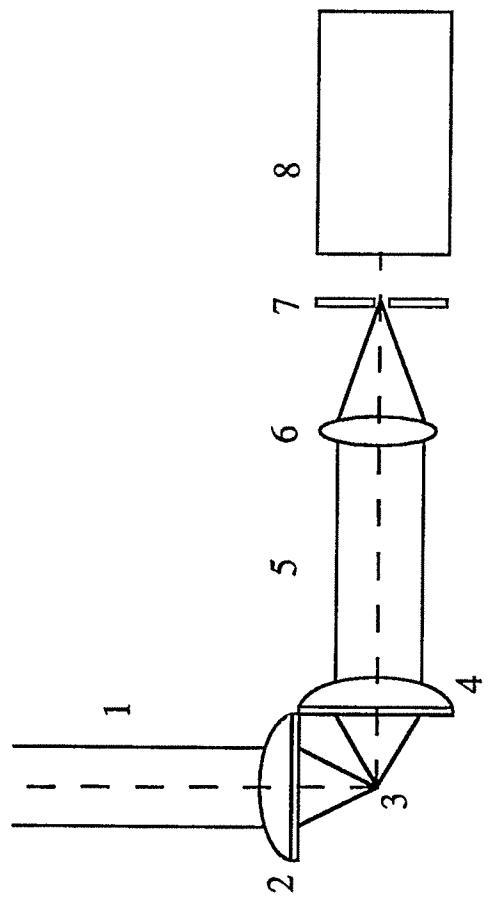
22. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Beleuchtungs- und/oder Detektionslicht durch optische Fasern gelenkt wird.

23. Mikroskop nach mindestens einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich optische Elemente mit mindestens einem Lichtdetektor angeordnet sind, insbesondere um zusätzliche Bilder, beispielsweise mit doppelkonfokaler oder herkömmlich konfokaler oder konventioneller Auflösung zu erhalten.

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen



Zeichnung 1



Zeichnung 2

Zeichnung 3

